

УДК 576.895.132

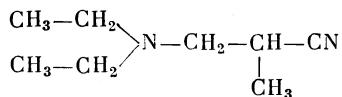
СТИМУЛИРОВАНИЕ РАЗВИТИЯ ЯИЦ ВНУТРИ САМОК НЕМАТОД ДЕЙСТВИЕМ β -ДИЭТИЛАМИНОИЗОБУТИРОНИТРИЛА

И. А. Садыхов, Р. М. Ахмедов, Е. М. Ханбекова

Установлена биологическая активность нового соединения — β -диэтиламиноизобутиронитрила, заключающаяся в стимулировании развития яиц и личинок внутри самок нематод открытого типа личиночного развития — явления, ранее не отмечаемого.

При обработке живых самок нематод открытого типа развития — родов *Trichostrongylus* и *Haemonchus* в течение 4 ч, *Ostertagia* — 3 ч, *Bunostomum* — 2 ч 5-объем-процентной смесью стимулятора с водой начинается развитие яиц и выход внутрь тела самки личинок, ведущих активный образ жизни и способных к дальнейшему развитию.

В последние годы синтезирован целый ряд органических соединений-аминонитрилов, представляющих интерес в биологии. Одно из таких веществ — β -диэтиламиноизобутиронитрил с формулой



в смеси с водой было испытано в качестве стимулятора развития яиц нематод родов: *Trichostrongylus* Looss, 1905; *Ostertagia* Ransom, 1907; *Haemonchus* Cobb, 1898; *Bunostomum* Raillet, 1902; *Marshallagia* Orloff, 1933 и *Nematodirus* Ransom, 1907 непосредственно внутри материнского организма, в результате чего был разработан принципиально новый эффективный метод культивирования донивазионных стадий нематод (Садыхов и др., 1982).

Объектом испытаний служили половозрелые самки перечисленных нематод, выделенные из кишечного тракта овец и хранящиеся до начала опытов в теплом физиологическом растворе. Для обработки β -диэтиламиноизобутиронитрилом отбирали живых самок, в гонадах которых содержались зрелые (на стадии 8—16 бластомеров) яйца. Самок помещали в смесь стимулятора заданной концентрации на определенное время. После экспозиции самок, не отмывая от реагента, переносили в дехлорированную воду и содержали в лабораторных условиях при температуре +19—23 °C.

Контроль. 1) Самки указанных видов нематод, содержащиеся при тех же условиях в дехлорированной воде. 2) Освобожденные от материнского организма зрелые яйца, обработанные β -диэтиламиноизобутиронитрилом заданной концентрации (от 9.1 до 5.0-объем-процентов) в течение такого же, как и в опытном варианте, времени и культивируемые затем в тех же условиях.

Развития яиц в первом контрольном варианте внутри самок нематод не наблюдалось: если самка не отбрасывала яйца перед гибелю, то они гибли в теле материнского организма. Среди гельминтов перечисленных групп явления живорождения и «*Endotokia matricida*» не отмечали (см. таблицу).

Развитие яиц нематод во втором контрольном варианте происходит по следующей схеме: культивирование яиц, обработанных стимулятором низкой концентрации, приводит к резкой стимуляции развития зародыша и выплеснунию личинок, но они гибнут на стадии I развития или в процессе 1-й линьки. При обработке яиц стимулятором повышенной концентрации развития яиц не происходит. Следует отметить, что данный вопрос требует самостоятельного изучения и в тему этой работы не входит.

Опыт 1. Действие β -диэтиламиноизобутиронитрила на самок нематод рода *Trichostrongylus*

Половозрелых активных самок трихострнгилид выдерживали в смеси 2-, 3-, 5-объем-процентных соотношений реактива с водой в течение 2—4 ч, после чего, не отмывая, переносили в воду. В одном варианте самки оставались в смеси в течение всего опыта. Гибель самок наступает через 4—8 ч после обработки реагентом; в матке начинается интенсивное развитие зрелых яиц, из которых через 1—1.5 сут начинается выплеснуние личинок. В теле самок скапливается более 20 активных, продвигающихся к вульварному или ротовому отверстиям личинок стадии I, часть которых выходит во внешнюю среду. Наиболее эффективным в отношении стимуляции развития яиц трихострнгилид оказалось 5-объем-процентная смесь реагента и 4-часовая экспозиция в нем самок (см. таблицу).

Уменьшение концентрации смеси или экспозиции самок в ней отрицательно влияет на выплеснуние личинок из яиц в гонадах самок.

Опыт 2. Действие β -диэтиламиноизобутиронитрила на самок нематод рода *Haemonchus*

Результаты обработки самок гемонхов стимулятором отражены в таблице. Как видно, 5-объем-процентная смесь его наиболее выраженно стимулирует развитие зрелых, находящихся на стадии дробления яиц гемонхов внутри самок. Выплеснуние личинок начинается в конце 1-х—начале 2-х суток. При 4-часовой экспозиции наблюдается массовый процесс выплеснуния личинок. При культивировании нематод в стимуляторе (вар. 1) самки долго остаются живыми: β -диэтиламиноизобутиронитрил не оказывает выраженного губительного влияния на взрослых паразитов, но развития яиц не происходит.

Развитие яиц и личинок нематод в теле самок под действием β -диэтиламиноизобутиронитрила

Вид нематод	Концентрация β -диэтиламиноизо- бутиронитрила (объем-процент)	Экспозиция (час)	Развитие яиц и вылупление личинок в самках							
			30 мин	4 ч	24 ч	2 сут	3 сут	5 сут	6 сут	
I <i>Trichostrongylus</i> sp.	5	В течение опыта	2	++	$\times+$	$\times+$	—O	ЛЛ+	ЛЛ+×	ЛЛ×
	5		4	++	\times	$\times O$	ЛЛ+O	ЛЛЛ+	ЛЛЛ+	ЛЛЛ—
	5		3	++	++	$\times \times$	—O	ОО	ЛЛЛ+	ЛЛЛ++
	3		3	++	++	$\times \times$	—O	—	=	=
	2		2	+++	++	+X	—X	—	—	—
	5		2	++	+	—	ЛЛ+	ЛЛЛ+X	ЛЛЛ+X	ЛЛЛ++
II <i>Haemonchus contortus</i>	3	В течение опыта	21	++	+	—	ЛЛ+	ЛЛЛ+X	ЛЛЛ+X	ЛЛЛX
	3		3 сут	—O	—	=	==	==	==	==
	5		4	++	\times	—O	ЛЛЛ+O	ЛЛЛ+	ЛЛЛ+X	ЛЛХ—
	5		1	++	+	+X	—OL	ОЛЛ+	ЛЛ+X	ЛЛЛ+X
	5		22	—	—	=	==	==	==	==
III <i>Ostertagia circumcincta</i>	5	В течение опыта	3 сут	—	—O	—	ЛХ	==	==	==
	2		2	++	++	$\times +$	Х—	—	—	—
	5		3	Х	OO	OO	Л+	Л+	ЛХ	ЛХ
	3		3	+	+X	$\times +$	—O	Л+	Л+	Л+
	5		3	+	+X	$\times +$	Х+	Л+	ЛЛ+	ЛЛЛ+
IV <i>Bunostomum trigonocephalum</i>	5 (отмыты)	В течение опыта	2	+X	—X	—	—	—	—	—
	5 (не отмыты)		2	++	+X	ОЛ	ОЛЛ	ЛЛЛ+	ЛЛЛ+	ЛЛЛ+
	5		3	XX	X—O	—O	Л—	—	—	—
Контроль	—	—	—	+++	+++	++	+X	—	—	—
<i>O. circumcincta</i>	—	—	—	+++	+++	+X	X—	—	—	—
<i>Trichostrongylus</i> sp.	—	—	—	+++	+++	+XX	X—	—	—	—
<i>H. contortus</i>	—	—	—	+++	+++	+XX	—	—	—	—
<i>B. trigonocephalum</i>	—	—	—	++	++	+X	—	—	—	—

П р и м е ч а н и е. Знак плюс — гельминт или личинка двигаются, 2 плюса — самки активны, но ослаблены, 3 плюса — самки очень активны; знак умножения — гельминт или личинка не двигаются, но живы; знак минус — объект погиб; знак равенства — разлагается; О — в теле самки заметно развитие яиц; ОО — яйца развиваются интенсивно; Л — началось вылупление личинок; ЛЛ — в теле самки насчитывается до 20 личинок; ЛЛЛ — в теле самки обнаружено более 20 личинок. Сочетание этих знаков с плюсом или минусом показывает, что личинки двигаются или гибнут в материнском организме.

Опыт 3. Действие β -диэтиламиноизобутиронитрила на самок нематод рода *Ostertagia*

Активных и ослабленных самок *O. circumcincta* выдерживали в 2-, 3-, 5-объем-процентной смеси стимулятора в течение 2 и 3 ч (см. таблицу). Активные самки более восприимчивы к действию стимулятора: они гибнут в более короткие сроки, а в их половом аппарате происходит более интенсивное развитие яиц — личинки выходят в тело самок к концу первых суток после гибели последних.

Опыт 4. Действие β -диэтиламиноизобутиронитрила на самок нематод рода *Bunostomum*

Для самок *B. trigonocephalum* Rud., 1808 установлено стимулирующее действие 5-объем-процентной смеси соединения на зрелые яйца в теле материнского организма. Уменьшение или увеличение концентрации смеси отрицательно влияет на развитие яиц. Экспозиция самок в растворе также существенно влияет на стимуляцию развития яиц и личинок буностом в теле самок (см. таблицу): если при 2-часовой экспозиции наблюдается интенсивный выход личинок в самках к концу первых суток, то при увеличении ее до 3 ч развивается лишь единичное число яиц.

Как видно, развитие яиц буностом и выход личинок из них в материнском организме оказывается успешным, если гельминты после экспозиции в стимуляторе не отмывались от его остатков. В варианте 1 при культивировании отмытых от смеси самок личинки в теле их не формировались, тогда как в варианте 2, где самок переносили в среду культивирования (воду) без удаления остатков β -диэтиламиноизобутиронитрила, развитие личинок было успешным. В теле самки скапливается более 40 активных личинок, которые на 3-и сутки приступают к 1-й линьке, по окончании которой выходят во внешнюю среду. На 11-е сут личинки стали инвазионными. Отклонений в морфологической структуре последних не отмечено.

Опыт 5. Действие β -диэтиламиноизобутиронитрила на самок нематод рода *Marshallagia* и *Nematodirus*

Нематоды рода *Marshallagia* по типу личиночного развития относятся к полуоткрытым, а рода *Nematodirus* — к полузакрытым типам, т. е. их личинки проходят в яйце соответственно одну и две линьки, в отличие от вышеописанных геогельминтов, которые относятся к нематодам с открытым типом личиночного развития (Шульц, Гвоздев, 1970).

Обработка самок этих нематод β -диэтиламиноизобутиронитрилом не вызвала формирования личинок в яйцах, находящихся в гонадах самок.

На основании описанных опытов можно сделать следующие выводы:

1. Для гельминтов открытого типа личиночного развития обнаружено новое явление — развитие яиц и личинок внутри материнского организма, происходящее при действии на самок 5-объем-процентной смесью β -диэтиламиноизобутиронитрила с водой.
2. Впервые установлена биологическая активность β -диэтиламиноизобутиронитрила — нового органического соединения из рода аминонитрилов.
3. При обработке стимулятором самок нематод родов *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Hemonchus* и *Bunostomum* после их гибели в половом аппарате происходит интенсивное развитие зрелых яиц и выплление внутри тела активных, способных к дальнейшему развитию личинок.
4. Наиболее оптимальными условиями обработки самок стимулятором является выдерживание их в 5-объем-процентной смеси его с водой остертагий — 3 ч, гемонхов и трихостронгилей — 4 ч, буностом — 2 ч.
5. β -диэтиламиноизобутиронитрил не стимулирует развитие яиц внутри самок нематод, личинки которых развиваются по полуоткрытым и полузакрытым типам.

Л и т е р а т у р а

Садыхов И. А., Ахмедов Р. М., Ханбекова Е. М. Способ получения личинок геогельминтов. — Положит. решение № 3387 010/30—15 от 8 июня о выдаче авторск. свид-ва, 1982.
Шульц Р. С., Гвоздев Е. В. Основы общей гельминтологии. Т. 1. М., Наука, 1970. 420 с.

Институт зоологии
АН АзССР, Баку

Поступила 5 VIII 1983
Принята к печати 26 IX 1985

STIMULATION OF EGG DEVELOPMENT IN FEMALES OF NEMATODES
WITH IMPACT OF β -DIETHYLAMINOISOBUTHIRONITRILE

I. A. Sadykhov, R. M. Akhmedov, E. M. Khanbekova

S U M M A R Y

The biological activity of a new organic compound β -diethylaminoisobuthironitrile was determined. A new phenomenon for nematodes of open-type larval development (Strongyloid) was found. Alive females of nematodes belonging to the genera *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Bunostomum* and *Haemonchus* were treated with 5 volumes-% mixture of the compound with water. The development of eggs of these nematodes in the mother body and output of larvae in female were observed. The larvae lead an active mode of life, feed and are capable of developing.

Optimal exposure of females in solution is 4 hours for *Haemonchus* and *Trichostrongylus*, 2 hours for *Bunostomum*, and 3 hours for *Ostertagia*.

Stimulation of egg development in nematodes of semiclose and semi-open types was not observed.
